

# Göz İçi Sıvısının Adli Tıp ve Adli Toksikolojideki Uygulamaları

## Applications of Vitreous Humor in Forensic Medicine and Forensic Toxicology

 Simge ZENGİN<sup>a</sup>,  Selda MERCAN<sup>a</sup>

<sup>a</sup>İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü, Fen Bilimleri ABD, İstanbul, TÜRKİYE

**ÖZET** Vitroz cisimciği olarak da bilinen göz içi sıvısı (GİS), %98-99'u su, protein, glikozaminoglikan, enzimler, metabolitler, hücreler, yağ asitleri ve elektrolitlerden oluşan jel formda bir sıvıdır. Bu biyolojik sıvı, postmortem araştırmalarda alternatif matris olma özelliği taşımaktadır. Fiziksel, kimyasal ve biyolojik inertliği, otolize karşı dirençli olması, pütrifikasyon (çürüme) görülmemesi, postmortem yeniden dağılımın daha sınırlı olması, mikrobiyal üreme görülmemesi ve kontaminasyona karşı oldukça korunaklı olması, bu sıvıyı diğer postmortem biyolojik sıvılara göre avantajlı hâle getirmektedir. Bu nedenle postmortem evrede toplanması gereken ve antemortem dönem hakkında bilgi verebilecek değerli biyolojik materyaldir. GİS, adli bilimler alanına; postmortem ölüm zamanı tahmininde, ilaç/psikoaktif madde ve metabolit analizinde, antemortem alkol kullanımı (akut veya kronik) hakkında bilgi edinilmesinde, elektrolit bozuklukların tespitinde ve diyabetik ketoasidozun belirlenmesinde katkı sağlamaktadır. Özellikle ölüm esnasında herhangi bir şahidin bulunmadığı durumlarda ölüm nedenini ve zamanını belirleyebilir, olası şüpheli/şüphelileri dışlayabilir ve adli sürece katkılar sağlayabilir. Alternatif kullanım alanları üzerine hâlen sürdürülmekte olan araştırmalar son zamanlarda GİS'in, kişinin böbrek fonksiyonu hakkında da bilgi verebileceği üzerinde yoğunlaşmaktadır. Bu çalışmada, adli bilimler için önemli bir biyolojik örnek olan GİS'in, fiziksel ve kimyasal özelliklerinin, adli tıp ve adli toksikoloji alanlarındaki mevcut kullanımının, avantajlarının, kısıtlılıklarının ve potansiyel kullanım alanlarının ve analiz yöntemlerinin ele alınması amaçlanmıştır.

**ABSTRACT** Vitreous humor, also known as vitreous body, is a fluid-like gel, composed of approximately 98-99% water with protein, glycosaminoglycan, enzymes, metabolites, cells, fatty acids and electrolytes. This biological fluid has the feature of being an alternative matrix in post-mortem investigations. Physical, chemical and biological inertness, resisting to autolysis and putrefaction, limited post-mortem redistribution, no microbial reproduction, and protecting itself from contaminations are some specific properties of the vitreous humor. This specimen having several ante-mortem information has many advantages than other post-mortem biological fluids. Applications of this biological sample in forensic sciences are post-mortem interval (PMI) estimation, determination of drug/psychoactive substances and their metabolites, ante-mortem alcohol consumption (acute or chronic), electrolyte imbalance assessment and diabetic ketoacidosis evaluation. Based on the analysis of vitreous humor, cause of death and PMI could be detected especially in the case of the absence of witness during death, therefore it may eliminate suspects, and contributes forensic investigation. Ongoing research on possible uses is focused on that vitreous humor may also provide information about the person's kidney function at the ante-mortem condition. This alternative biological sample is a promising fluid in post-mortem researches and other uses areas of this fluid is still searching. In this study, it was aimed to handle vitreous humor's chemical and physical structure, current uses, advantages and limitations of using this matrix in the forensic sciences and forensic toxicology, and analysis methods as a promising biological sample in the forensic field.

**Anahtar Kelimeler:** Göz içi sıvısı; postmortem; post-mortem interval; antemortem

**Keywords:** Vitreous humor; post-mortem; post-mortem interval; ante-mortem

Göz içi sıvısı (GİS), 1960'lerden bu yana çalışılan biyolojik bir örnektir. Postmortem uygulamadaki kullanımı, ilk olarak bu sıvıda kimyasal değişimlerin analiz edilmesi şeklinde olup, Naumann tarafından ortaya atılmıştır. Ortaya atıldığı günden bu yana, büyük bir ilgiyle araştırmalar sürmektedir. Gü-

nümüzde bu sıvının adli tıp ve adli toksikolojide kullanımlarının araştırılması hâlâ tartışmalı olarak geliştirilmeye devam etmektedir.<sup>1,2</sup>

Günümüzde adli tıp açısından post-mortem interval (PMI) belirlenmesinde, elektrolit değişimlerinin bulunmasında, kimyasal maruziyetin tayininde ve

**Correspondence:** Selda MERCAN

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü, Fen Bilimleri ABD, İstanbul, TÜRKİYE/TURKEY

**E-mail:** mercans@istanbul.edu.tr



Peer review under responsibility of Türkiye Klinikleri Journal of Forensic Medicine and Forensic Sciences.

**Received:** 06 Dec 2020

**Received in revised form:** 08 Jan 2021

**Accepted:** 11 Jan 2021

**Available online:** 18 Mar 2021

2619-9459 / Copyright © 2021 by Türkiye Klinikleri. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

patolojik durumların tanısında oldukça önem taşıyan bir matrikstir. Postmortem örnek sınıfında yer alan bu sıvı, adli tıp ve özellikle adli toksikoloji açısından büyük öneme sahiptir. Kanın ve idrarın bulunmadığı durumlarda, ölüm nedeninin araştırılması ve antemortem (ölüm öncesi) hakkında bilgi edinilebilmesi için kullanılabilir örneklerdir.<sup>1,2</sup> Kişinin tıbbi belgelerine ulaşamadığı durumlarda, ölüm sebebinin bilinmediği ve ölümü esnasında herhangi bir şahit olmadığına bilgi verebilecek en önemli biyolojik sıvıdır. Anatomik olarak izole olması, kontaminasyon riskinin daha az olması, kanda ve idrarda aranan bazı ilaç ve metabolitlerin bu sıvıda da aynı oranda bulunması, çürüme ve otolizde zarar görmemesi, postmortem yeniden dağılımın daha az gerçekleşmesi nedeniyle GİS'in, diğer biyolojik sıvılara göre pek çok üstünlüğü vardır. Proteine bağlanmayan maddeler, düşük molekül ağırlıklı maddeler ve elektrolitlerin, bu sıvıda analizi yapılabilmektedir.<sup>2-5</sup> Ayrıca morfolojik incelemelerle belirlenemeyen diabetes mellitus, alkolizm, ketoasidoz, elektrolit bozuklukları gibi patofizyolojik ölümlerin tespitinde büyük rol oynamaktadır. Ayrıca hipernatremi veya hiponatremiye bağlı ölümlerin aydınlatılmasında, ani çocuk ölümlerinin (ani bebek ölümü sendromu) ortaya çıkarılması için tercih edilen bir sıvıdır.<sup>1</sup>

Bu çalışmada, adli bilimler için önemli bir biyolojik örnek olan GİS'in yapısının, adli tıp ve adli toksikolojide kullanımının, avantajlarının, kısıtlılıklarının, potansiyel kullanım alanlarının ve analiz yöntemlerinin ele alınması amaçlanmıştır. Çalışmada, GİS'in fiziksel, kimyasal ve fonksiyonel özelliklerinden bahsedilmesinin ardından, adli tıp ve adli toksikolojideki kullanım alanlarından, postmortem biyolojik örnek olarak diğer örnek türlerine göre üstünlüklerinden ve olası kullanım alanlarından bahsedilmiştir. Çalışma boyunca çeşitli arama motorlarından (ScienceDirect, PubMed ve Google Akademik) faydalanılarak, GİS'in mevcut durumu ve potansiyel kullanım alanları irdelenmiş ve güncel literatür ışığında bu bilgilerin bir derlemesi sunulmuştur. Ulusal literatürde, bu alternatif biyolojik örnek hakkında güncel araştırma alanlarını da kapsayan sınırlı sayıda çalışma bulunduğundan, bu derlemenin adli bilimler alanında fayda sağlayacağı ve yeni çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

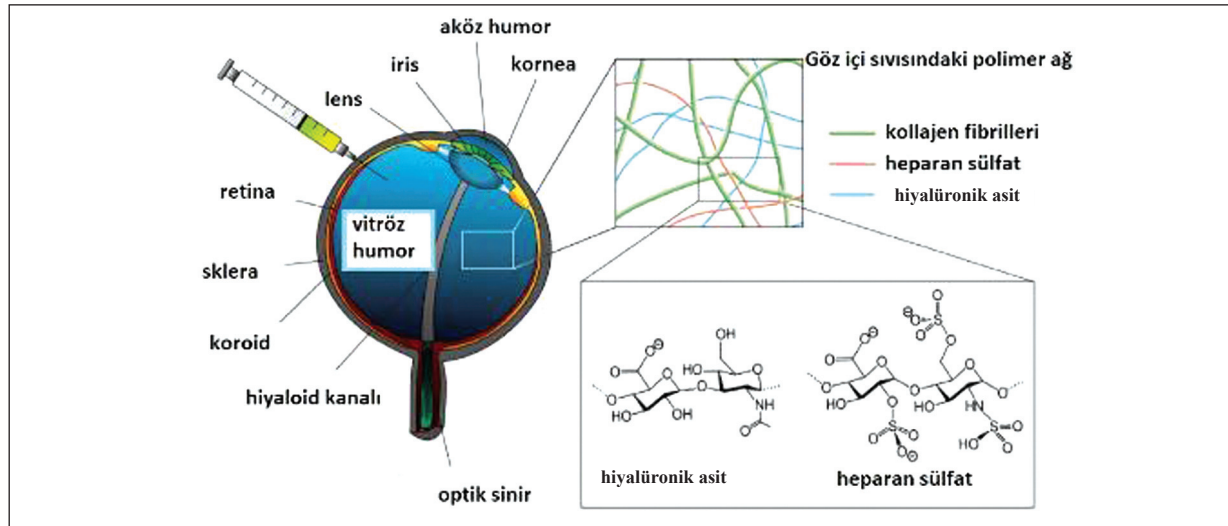
## GÖZ İÇİ SIVISININ FİZİKSEL, KİMYASAL VE FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ

GİS, vitröz humor ya da vitröz cisimciği olarak da bilinen gözün anterior segmenti boyunca uzanan lens, zonular ve siliyer cisimciğiyle sınırlandırılmış, jelimsi, şeffaf, avasküler yapıda bir sıvıdır. Lens ile retinanın arasını doldurmada ve eklem bacaklılardan memelilere kadar tüm hayvanlarda bulunmaktadır. Her iki gözde de yaklaşık 4-5 mL bulunabilen, hidrofilik ve renksiz bir örnektir.<sup>2,6,7</sup>

GİS'in kimyasal kompozisyonu temel olarak %98-99 su, protein, glikozaminoglikanlar, askorbik asit, metabolitler, yağ asitleri, prostaglandinler, hücreler, elektrolitler ve enzimlerden oluşmaktadır.<sup>6</sup> GİS'te bulunan protein miktarı yaklaşık 0,5 mg/mL olup, 1.205 tane tayin edilebilir protein içermektedir. Bu proteinlerden en bol bulunan (%60-70) albumindir. Diğer proteinler ise globülinler, koagülasyon faktörleri, düşük molekül ağırlıklı proteinler ve tamamlayıcı proteinlerdir.<sup>7</sup> Çözünmez protein olan kollajenden [kollajen tip II (%60-75), tip IX (%25), tip V/IX (%10-25), tip IV (<%10)] oluşmaktadır.<sup>6</sup>

En önemli bileşeni olan glikozaminoglikan gruplarından özellikle hiyalüronik asit, kondroitin sülfat ve heparan içermektedir. Hiyalüronik asit, hiyaluronan ve hiyaluronat olarak da bilinen GİS'in majör bileşenidir. Hiyaluronan moleküllerinin, kondroitin sülfat proteoglikan veya heparan sülfat proteoglikan üzerinden kollajen fibrillerine çapraz bağlandığı ve viskoelastik yapıya katkıda buldukları sanılmaktadır. Kollajen ile 3D yapı oluşturup, viskoziteyi belirleyen temel faktör olarak bilinmektedir. Kondroitin sülfat, hücre dışı matriksin ana bileşenidir. Versikan ve tip IX kollajen, bu biyolojik sıvıda yer almaktadır. Versikanın kodlanmasında görevli genlerdeki (CSPG2) mutasyonlar sonucu, otozomal dominant Wagner vitreoretinal degradasyonuna neden olmakta, bu da genç yaşta görmede bozukluklara sebep olmaktadır. Bir diğer bileşen olan heparan sülfat, GİS'te az miktarda bulunmaktadır.<sup>6</sup> GİS'in kimyasal kompozisyonu Şekil 1'de görülmektedir.

GİS'te metabolit olarak laktik asit ve glukoz yer almaktadır. Glukoz, GİS'teki enzimatik aktiviteyi desteklemek için kullanılmaktadır. Vitröz laktatı, plazma laktat seviyesinden bir miktar daha fazla bulunup, vit-

ŞEKİL 1: Göz içi sıvısının kimyasal bileşimi.<sup>8</sup>

röz metabolitlerinin en büyük kısmını oluşturmaktadır. Bunlar dışında üre, kreatinin ve elektrolit içermektedir.<sup>6</sup> GİS'te bulunan elektrolitler sodyum, potasyum, klorür, kalsiyum ve magnezyum olarak sayılabilir.<sup>2</sup> Askorbik asit, plazmadaki miktarına oranla GİS'te daha fazla bulunmaktadır. Yaşlanma sırasında oluşan likefaksiyon (erime-sıvılaşma) oluşumuyla ilişkilendirilmektedir. Yakın zamanda yapılan çalışmalara göre potansiyel antioksidan olabileceği, buna bağlı olarak vitrözdeki serbest oksijen radikallerinin miktarını azaltabileceği öne sürülmektedir. Bu da erken katarakt oluşumunu engellemede oldukça önemlidir. GİS'teki serbest amino asit miktarı, plazma amino asit miktarıyla neredeyse aynıdır. Bu sıvı, toplam lipidin ~%50-55'ini oluşturan doymamış yağ asitlerini içermektedir. Prostaglandinler, doymamış karboksilik asit yapıdan oluşan 20 karbon iskeletli ve 5 halkalı yapıdadır. Araşidonik asitten sentezlenirler. İnsan GİS'indeki prostaglandin miktarı yaklaşık 100 pg/mL'dir. GİS'te 3 tip hücre tespit edilmiştir. Bunlar; hyalositler, fibrositler ve makrofajlardır. GİS'in makromoleküler bileşimi, türden türe farklılık göstermektedir. İnsan GİS'ine benzer hiyaluronan konsantrasyonu maymunda bulunmaktadır. Yapılan başka çalışmalara göre ise tavşan GİS, insan GİS'inin iyi bir farmakokinetik modelidir.<sup>6</sup>

GİS'in fiziksel özelliklerine bakıldığında, uzun kollajen fibrillerin ve hiyalüronik asidin askıda bir yapı oluşturduğu görülmektedir, bu yapı da su mole-

külleri ile çevrelenip, stabilize edilir. Bunun sonucunda GİS'in özünü oluşturan jelimsi yapı oluşur. GİS, makroskobik olarak homojen görüne de aslında heterojen bir yapıdadır. İçerisinde barındırdığı kollajen, protein, bağlı su, hiyalüronik asit, glukoz, laktat ve oksijen bu jelimsi sıvının akışkanlık, yoğunluk gibi özelliklerini belirler. Gradyentler, intravitreal ilaç alımında, ilaç konsantrasyonunun lokal farklılıklarını belirleyen en önemli olası faktördür.<sup>6</sup> GİS'in reolojik özelliklerine bakıldığında, ağırlığı 4 g, refraktif indeksi 1,3345-1,3348, yoğunluğu 1,0053-1,0089 g/cm<sup>3</sup>, pH 7,0-7,4 ve viskozitesi 300-2.000 cP olarak bilinmektedir.<sup>9</sup>

Fonksiyonel olarak aşağıdaki özellikleri arasında; gözün büyüme, elastiklik ve hacmine etkisi, şeffaflık ve odaklanmaya etkisi, bariyer işlevi ve besinsel/metabolik işlevi sayılabilir.<sup>6</sup>

## ■ GÖZ İÇİ SIVISININ ADLİ TIP VE ADLİ TOKSİKOLOJİDEKİ ÖNEMİ

GİS, adli araştırmalar açısından oldukça önemli bir matristir. Adli kimya, "Adli patologlar için önemli, kadim işlemlerden biri" şeklinde nitelendirilmiş ve GİS'te sadece glukoz, elektrolit ve üre azotu tayin edilerek vakaların %5'inden fazlasında ölüm zamanının belirlenebileceği, daha da önemlisi adli soruşturmaların çözümünde %10 katkı sağlayabileceği vurgulanmıştır.<sup>10</sup> Bu matriksin en önemli avantajları arasında büyük organlara uzak oluşu, kemiklerle ko-

runan yapısı sayesinde kafa travmaları da dâhil tüm travmalardan zarar görmemesi, pütrifikasyona uğramaması ve diğer vücut sıvılarıyla karışmasının pek mümkün olmaması sayılabilir.

Biyolojik ve kimyasal değişimlere karşı oldukça dayanıklı olan bu sıvı, postmortem toksikoloji açısından oldukça önemlidir. Ayrıca örnek hazırlamanın ve analizin kolay olduğu, GİS'in idrara göre kanı daha çok temsil ettiği bilinmektedir. Kanda bulunan madde konsantrasyonu GİS'te bulunan madde konsantrasyonunun oldukça benzer olması, yani antemortem madde konsantrasyonu hakkında bilgi vermesi açısından oldukça değerlidir. Kan ve idrarın bulunmadığı veya elde edilemediği durumlarda tercih edilen bir sıvıdır.<sup>11,12</sup> Kan, postmortem sonrası hızla koagülasyona uğradığından, ölüm gerçekleştiği anda veya çok kısa süre içerisinde alınmadığı takdirde kimyasal içeriğinin analizi zorlaşmaktadır. Bu gibi durumlarda oküler sıvılar (retinal ve vitröz), büyük önem arz etmektedir. GİS, PMI tahmini için en çok kullanılan biyolojik sıvıdır. Bu sıvı, postmortem degradasyondan ve kontaminasyondan korunmuş, yüksek stabilite gösteren ve böylelikle postmortem analizler bakımından yararlı bilgiler sağlayan, ayrıca antemortem madde serum konsantrasyonu ve metabolik durum hakkında bilgi veren önemli bir biyolojik sıvıdır. Her iki göz arasında biyokimyasal madde konsantrasyonu açısından önemli bir fark bulunmamıştır.<sup>1</sup>

Her ne kadar bazı sıvılara göre üstünlükleri olsa da bazı kısıtlılıkları da mevcuttur. Madde miktarının çok az olduğu durumlarda maddenin tespiti zorlaşır. Ayrıca kan-retina bariyerini geçemeyen bazı maddelerin tespiti mümkün olmamaktadır. GİS'in hacminin, diğer sıvıların hacmine göre daha az bulunması sebebiyle tekrarlayan analizlerde yetersiz kalması da diğer bir dezavantajdır.<sup>3</sup>

GİS'in adli bilimlerdeki genel kullanım alanları, detayları ile aşağıda açıklanmakta olup, diğer uygulama alanları ise **Tablo 1**'de özetlenmiştir.

### GÖZ İÇİ SIVISINDA ALKOL TAYİNİ

Etil alkol, şiddet eğiliminin ve bazı hastalıkların artışına, travma ve intoksikasyona bağlı ölümlere yol açmaktadır. Kan-alkol düzeyinin 300 mg/dL üzerinde olması, tek başına alkolün ölümcül etkilerini ortaya

**TABLO 1:** Göz içi sıvısının diğer uygulama alanları ve aranan belirteçler.<sup>3</sup>

| Uygulama alanı                  | Aranan belirteçler                                |
|---------------------------------|---|
| Postmortem kimliklendirme       | DNA   |
| Viroloji                        | Anti-HIV antikorları<br>Proviral DNA              |
| Anafilaktik şok                 | β-triptaz   |
| Ani bebek ölümü                 | Birçok biyokimyasal parametre<br>Hipoksantin      |
| Hipotermiden ölüm               | Katekolaminler<br>Amilaz ve izoamilaz<br>Glukoz   |
| Hipoksiden ölüm                 | Hipoksantin                                       |
| Kronik alkol tüketimi           | CDT (carbohydrate deficient transferrin)<br>Çinko |
| Alkolik ketoasidoz              | Keton cisimcikleri                                |
| Beyazlatıcı ile intoksikasyonda | Sodyum ve klor iyonları                           |
| Beyin hasarı tespiti            | Aminopeptidaz<br>Glisemi<br>Glukoz<br>Laktat      |
| Hamilelik                       | Koryonik gonadotropin                             |
| Endokrin bozukluklar            | Hormon  |

çıkarmaktadır. Adli tıbbi araştırmalarda, alkol tayini rutin bir araştırmanın en önemli parçasıdır. Adli araştırmalarda, kan-alkol düzeyini ölçmek için femoral kan kullanılır ancak bıçaklama, yanma ve ciddi hemoraj durumlarında femoral kan elde edilmesi oldukça zordur ve postmortem kan-alkol düzeyini doğru bir şekilde ölçmeyi de zorlaştırmaktadır.<sup>1</sup> Öte yandan kişi öldükten sonra çürümenin başlamasıyla birlikte mikroorganizmalar vücutta alkol üretmeye başlar. Bunun sonucunda oluşan alkolün, kişinin aldığı alkol mü yoksa mikroorganizmalar nedeniyle oluşmuş alkol mü olduğunun ayırt edilmesi gerekmektedir. Mikroorganizma kaynaklı alkol, yanlış pozitif bulgu elde edilmesine neden olmakta, bu da yanlış yorumlara sebebiyet vermektedir. Yanlış değerlendirmeleri engellemek amacıyla alternatif vücut sıvılarına ihtiyaç duyulur. Biyolojik sıvılarda, alkolün kendisinin yanı sıra metabolitlerinin (etil glukuronit ve etil sülfat) araştırılması da bir diğer seçenektir. Bu amaçla toplanan GİS ve idrar, alkol tüketimi hakkında bilgi verebilecek önemli diğer 2 biyolojik sıvıdır.<sup>13,14</sup>

Ioan ve ark.nın yaptıkları çalışmada, 202 adli vakadan kan, idrar ve GİS alınarak alkol konsantrasyonlarını karşılaştırılmış ve kan-alkol düzeyini en iyi temsil eden örneğin GİS olduğu kanısına varılmıştır.<sup>15</sup> Kan-alkol düzeyini indirekt yolla saptamak için GİS'teki alkol düzeyinden yola çıkılarak, belli katsayılar ve formüller kullanılmaktadır. Almanya'da yapılan bir çalışmada, 592 otopside kan ve GİS örnekleri alınmış ve çalışma sonucunda GİS alkol miktarını 0,81 katsayı ile çarparak kan alkol düzeyinin hesaplanabileceği açığa çıkarılmıştır.<sup>13</sup> Caplan ve Levine'nin yaptıkları postmortem araştırmada, kan-alkol düzeyi eğer 0,03 g/dL altında ise GİS'te alkol düzeyinin negatif, 0,05 g/dL dolaylarında ise %87 olasılıkla pozitif, 0,05 g/dL üzerindeyse %99 olasılıkla yine pozitif bulunacağı bildirilmiştir.<sup>16</sup>

### ÖLÜM ZAMANININ TAHMİNİ

PMI'nın tahmini, adli tıp için çok önemli bir konudur. Kriminal araştırmalarda, ölüm zamanı tahmininde birçok ciddi hatalar yapılmaktadır.<sup>1</sup> GİS, sıklıkla bu amaç için kullanılmaktadır. GİS'te PMI ile pozitif korelasyonu olduğu düşünülen maddeler; sodyum, klorür, kreatinin, amino asit, azotlu üre, ürik asit ve laktat olarak bilinmektedir.<sup>1,2,17</sup> Yapılan çalışmalara göre sodyum, klorür, kreatinin ve laktatın diğer maddelerle karşılaştırıldığında daha stabil kaldığı bildirilmektedir.<sup>1</sup>

#### a) Potasyum

Potasyumun, postmortem evrede membran boyunca difüzyon hızı sabit olmakta ve bundan dolayı PMI'nın belirlenmesinde öncü madde olarak değerlendirilmektedir. Canlı bir kişide  $Na^+/K^+$  pompası etkisi nedeniyle intraselüler potasyum seviyesi yüksek, ekstraselüler seviyesi düşüktür. Ölüm sonrası hücre sel hipoksi gerçekleşir ve ATP tüketimi artar. Membranın seçici geçirgenliği azalır ve intraselüler potasyum pasif difüzyonla GİS'e geçer ve bu da GİS'te potasyum artışına öncülük eder. İstatistiksel modeller, GİS potasyum konsantrasyonu ile ölüm zamanı arasında lineer bir ilişki olduğunu göstermektedir.<sup>17</sup> Madea ve ark. GİS'teki potasyumun, PMI'nın belirlenmesinde kullanımı için bir formül geliştirmiş ancak bunun 120 saatlik (5 gün) süre içinde gerçekleşen ölümlerde kullanılabileceğini belirtmiştir.<sup>18</sup>

Öte yandan potasyum konsantrasyonunu çeşitli faktörlerin etkilediği, buna bağlı olarak potasyumun ölüm zamanı değerlendirilmesindeki kullanımını kısıtlamasına yol açtığı bilinmektedir. Bu faktörlere örnek olarak ölüm nedeni, öldüğü mevsim, örneğin dondurucuya koyulması, yaş ve antemortem metabolik durum, örnekleme, kullanılan potasyum ölçüm cihazı, ortam sıcaklığı verilebilir.<sup>17</sup> Murthy ve ark.nın yaptıkları çalışmada, otopsi öncesi soğuk odada bekletilen kadavralarda GİS'teki elektrolit seviyelerinin değişimleri incelenmiş; soğuk ortamın GİS'teki potasyum seviyelerini önemli ölçüde değiştirdiği görülmüştür.<sup>19</sup>

1985 yılında yapılan araştırmada, tatlı suda boğulmuş 25 kadavrada ölüm zamanının kimyasal tespit yapılarak belirlenmesi sonucunda, potasyum konsantrasyonunun soğuk havada arttığı, bir hafta sonra ise düştüğü ya da analiz edilemediği sonucuna varılmıştır. Ayrıca soğuk havalarda gözdeki elektrolit konsantrasyonlarının, tatlı suyun etkisi ile düştüğü vurgulanmış, potasyum ve klorür konsantrasyonlarının soğuk suda boğulan cesetlerde 2-10 güne kadar belirlenebilir olduğu gösterilmiştir.<sup>20</sup>

#### b) Hipoksantin

Hipoksantin, ksantin ve ürik asit pürin katabolizması sonucu oluşan maddelerdir. Hipoksantin, adenosin monofosfatın degradasyonu ile oluşan pürin metabolitidir. Hipoksiye bağlı olarak konsantrasyonu artar ve retina girer. Hipoksantin, tek başına ölüm zamanı tahmininde yetersizdir. Ancak hipoksantin, ksantin ve potasyum ile birlikte değerlendirildiğinde anlamlı sonuçlar verir.<sup>1</sup> Bazı kaynaklara göre hipoksantin ve L-laktik asit birlikte ölüm zamanı ile yüksek korelasyon gösterir.<sup>21</sup>

#### c) Sodyum ve Klorür

Sodyum iyonu, hücre dışında bol bulunan pozitif bir iyondur. Serum sodyumu, ozmotik basıncı belirler ve ekstraselüler sıvı hacmi toplam sodyum iyon içeriğine göre belirlenir. Sodyumun normal vitröz değerleri 135-145 mmol/L arasındadır. Klorür ise ekstraselülerde bulunan majör anyondur. Vücuttaki asit-baz değişimleri ve sodyumun metabolize edilmesinde rol oynamaktadır. Vitröz klorür normal değerleri 105-135 mmol/L'dir.<sup>17,22</sup> Yapılan birkaç

çalışmaya göre ölüm gerçekleşikten sonra geçen zaman arttıkça sodyum ve klorür miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda, postmortem evrede kişinin sodyum ve klorür düzeyine bakılarak ölüm zamanı hakkında bilgi edinilemeyeceği gösterilmiştir.<sup>17</sup> Ancak Zilg ve ark., kişinin öldüğü zamandan sonraki süreç ilerledikçe sodyum ve klorürün her gün yaklaşık 2,2 mM/gün azaldığını ancak örnek sayısının yetersiz olduğundan, sonuçların tekrarlanabilmesi ve doğrulanması için yeterli olmadığını ortaya koymuşlardır.<sup>23</sup> Zaman etkisinin yanı sıra GİS'teki sodyum ve klorür miktarlarının, bedenın ısısına göre farklılık gösterdiğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır; bu çalışmalar sonucunda soğukta bekletilmiş cesedin GİS'teki sodyum ve klorür değerlerinden yola çıkılarak ölüm zamanının belirlenemeyeceği kanaatine varılmıştır.<sup>19</sup>

#### d) Magnezyum

Magnezyum, postmortem biyokimyasal değişimlerin araştırılması için kullanılan önemli belirteçlerden biridir. Antemortem dönemde çok küçük miktarda magnezyum, retinadan lense oradan da GİS'e difüze olmaktadır. Ölümden sonra ATP tüketimi ve seçici geçirgen membran kaybı, magnezyum iyonlarının hücre içi ve hücre dışı sıvılarda geri dağılıma uğramasına neden olmaktadır. Magnezyumun postmortem evrede artış mekanizması, PMI'nın tahmininde kullanılabilir ancak hâlen tartışmalı hâlini korumaktadır. Her ne kadar magnezyum ile ölüm zamanı arasında pozitif bir korelasyon olduğunu bildiren çalışmalar olsa da bunun aksini gösteren çalışmalar da mevcuttur. Bu yüzden günümüzde PMI'nın tahmininde kullanımını tam olarak bilinmemektedir.<sup>17</sup>

#### e) Azotlu bileşikler

Üre azotu, ürik asit ve kreatinin protein metabolizması sonucu oluşan ürünlerdir. Bu ürünlerin postmortem serum örneklerinde değişmedikleri, miktarlarının sabit olduğu bilinmektedir. Birçok araştırmacı otopsilerden elde edilmiş GİS, perikardiyal sıvı, serebrospinal sıvı, sinovyal sıvı ve serum örneklerini incelemiştir. Hanna ve ark.'nın köpeklerde yaptıkları çalışmada, köpeklerden GİS ve serum örnekleri alınmış ve ölüm zamanı ile üre ve kreatinin konsantrasyonları arasında sıkı bir korelasyon olduğu

gözlemlenmiştir.<sup>24</sup> Palmiere ve Mangin'in yaptıkları çalışma, azotlu bileşiklerin GİS'teki ve diğer biyolojik örneklerdeki kararlılığını doğrular nitelikte olmuştur.<sup>25</sup>

#### f) Amino asitler

Vücutta çeşitli işlevleri olan amino asitler, kan-vitröz bariyerini serbest formdayken geçebilirler. Bu da amino asit konsantrasyonunun korunması için temeldir. GİS'te, postmortem dönemde amino asit değişimleri ile ilgili pek çok çalışma bulunmaktadır ve bu moleküller, PMI'nın belirlenmesinde biyobelirteç olarak kullanılmaktadır.<sup>17</sup> Patrick ve Logan'ın yaptıkları çalışmaya göre 27 amino asidin GİS'te bulunduğu ve PMI ile arasında bir doğru orantı olduğu rapor edilmiştir.<sup>26</sup> Ansari ve Menon, GİS'te amino asit analizi yapmıştır. Bu çalışmada, sistemin tespiti için gümüş nanoparçacık temelli floresans prob kullanarak, PMI belirlenmeye çalışılmıştır. Daha sonraki çalışmalarda, floresans spektroskopisine dayanan çok hassas bir yöntem geliştirip, burada triptofan seviyesine bakılmıştır. Sonuç olarak triptofan seviyesinin PMI ile yakından ilişkili olduğu bulunmuştur. Ancak hâlen günümüzde potasyum konsantrasyonu, amino asitlere göre daha güvenilir sonuçlar vermektedir.<sup>27</sup>

#### g) Metal ve metalloproteinler

PMI ile GİS'teki Fe, Mg ve Mo miktarları arasında korelasyon bulunmaktadır. Ancak Mg ve Mo konsantrasyonları ile PMI arasındaki korelasyonun zayıf; 1-7 gün arasında değişen PMI ile Fe konsantrasyonları arasında ise daha güçlü bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. Öyle ki Fe konsantrasyonundan yola çıkılarak ölüm zamanı tahmini için "PMI=0,0176 (Fe)+0,425" formülü önerilmektedir. Ancak ölüm şekli, ortam sıcaklığı vb. diğer etkenlerle birlikte değerlendirildiğinde, bu tür mutlak ilişkilerin hataya sebebiyet verebileceği ihtimali unutulmamalıdır.<sup>28</sup>

#### H) miRNA

miRNA'lar, gen ekspresyonunu düzenleyen protein kodlamayan RNA'lardır.<sup>28</sup> Odriozola ve ark., yaptıkları çalışmada, PMI ile aralarında anlamlı ilişki bulunmamasına rağmen sirkadyan ritim nedeniyle sürekli değişen oranlarda saptanan miRNA'lar ölüm zamanı hakkında gece veya gündüz gibi zaman tah-

mininde bulunmaya yardımcı olabileceğini belirtmişlerdir.<sup>29</sup>

## GÖZ İÇİ SIVISINDA ADLİ TOKSİKOLOJİK VE BİYOKİMYASAL ANALİZLER

GİS; kan, idrar ve karaciğerden sonra ilaç/yasadışı madde kullanımı hakkında en güvenilir bilgi veren biyolojik sıvıdır. İdrarın az miktarda bulunma olasılığı ve karaciğerde ilaç-etken madde analizinin görece zor olması, bu sıvının değerini artırmaktadır. GİS'te madde analizi genellikle kalitatif olarak yapılır.<sup>30</sup> Pelander ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, aynı kişilerden alınan idrar ve GİS'lerindeki etken maddeler karşılaştırılmıştır. Bu çalışmaya göre idrarda 55 ana madde, 39 metabolit bulunmuş, GİS'te ise 45 ana madde ve 24 metabolit bulunmuştur. Bulunan maddeler idrarda daha yüksek, GİS'te daha düşük düzeyde bulunmuştur. Bunun sebebinin kan-retina bariyeri olduğu düşünülmektedir. Polar yapılı olan parasetamol, oksazepam ve temazepam gibi ilaçlar, kan-retina bariyerinden dolayı GİS'te bulunamamıştır.<sup>12</sup> Kokain, benzoilekgonin, morfin, kodein, 6-asetilmorfin, fensiklidin, gama hidroksibütirik (GHB) asit ve benzodiazepinler GİS'te tespit edilebilen maddelerdir.<sup>3</sup> Bu maddelerin içerisinde özellikle GHB, madde etkisi ile kolaylaştırılmış cinsel istismar vakalarında görülmektedir. Renssiz ve kokusuz olan bu madde, yiyecek ve içeceklerle karıştırılarak mağdurun etkisiz hâle gelmesine neden olmaktadır. Bu yüzden cinsel istismar varlığının sorgulandığı durumlarda, bu maddenin analizi oldukça önemlidir.<sup>31</sup> Yapılan postmortem bir çalışmada, cinsel istismara uğradığı düşünülen bir kadının rektal ve vajinal bölgelerinden "swab"lar alınmış, ancak spermatozoaya rastlanmamış, idrar kesesi boş olduğundan idrar örneği de alınamamış, kan ve GİS alınmıştır. Hangi örneğin daha stabil olduğu ve GHB düzeyini daha doğru ölçebileceği karşılaştırılmış ve sonuç olarak GİS'in kana göre daha güvenilir sonuçlar verdiği kanaatine varılmıştır.<sup>32</sup>

Pragst ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, opiyat intoksikasyonu sebebiyle hayatını kaybeden 29 kişinin GİS ve idrarı alınmıştır. Bu 29 kişinin 2'sinde idrarda 6-monoasetilmorfin görülmeyip GİS'te bulunmuştur. Bunun da GİS'in diğer sıvılardan farklı olarak esteraz enzim aktivitesinin düşük olmasından

kaynaklandığı öne sürülmüştür. "GİS kana göre neden daha çok tercih edilmelidir?" sorusu 2 hipotezle açıklanmaktadır. Bunlardan birincisi lipofilikliğinden dolayı iyi bir membran geçirgenliğine sahip olmasıdır, ikincisi ise esteraz enziminin GİS'te düşük olması nedeniyle degradasyonun sınırlı olmasıdır.<sup>33</sup>

Robertson ve Drummer'ın yaptığı postmortem çalışmada, 3-nitro benzodiazepinler (nitrazepam, flunitrazepam ve klonazepam) ve bunların 7- amino metabolitleri kanda tespit edilmiş ancak GİS'te tespit edilememiştir. Üstelik ana madde analizi yapıldığında vakaların GİS'inin sadece %10'unda ana madde tespit edilmiş, ancak kanda bu ana maddelerin %30'u tespit edilmiştir. Bu farklılık ise genelde GİS'teki benzodiazepin seviyelerinin, kana göre 1/3 oranında bulunmasından kaynaklanmaktadır.<sup>34</sup> Benzodiazepinlerle ilgili Scott ve Oliver'ın yaptıkları çalışmada ise 17 postmortem vaka ele alınmış; diazepam, nordazepam ve temazepam kanda ve GİS'te tayin edilmiştir. Yedi vakanın kanında bir veya daha fazla benzodiazepin tespit edilmiş olup, GİS'te tespit edilememesi, benzodiazepinlerin proteine sıkıca bağlandığını, nötral veya zayıf asidik özellikleri sebebiyle de GİS'e difüzyonunun düşük olduğunu göstermektedir.<sup>35</sup>

Adli toksikolojide sıkça araştırılan bir diğer madde ise kokaindir ve postmortem yeniden dağılım (redistribüsyon) kanda kokain analizini maskeleyebilmektedir. Bu nedenler, kokain ve metaboliti olan benzoilekgoninin tayini için GİS'in tamamlayıcı bir örnek olduğu düşünülmektedir. Kokain/benzoilekgonin oranı, tam kana göre GİS'te daha yüksek bulunmuştur. Bunun en büyük dayanağının ise göz içinde enzim aktivitesinin düşük olmasından kaynaklandığı, dolayısıyla kokain degradasyonunun daha az olduğu söylenebilir. Kokain ve metabolitinin hem kantitatif hem kalitatif analizi uygundur.<sup>2</sup> Antonides ve ark.nın, 40 otopsi materyali ile yaptıkları çalışmada, GİS'teki kokain miktarları kana oranla %72'sinde daha fazla çıkmıştır. Buna rağmen yapılan diğer çalışmalarda, bazı farklılıklara da rastlanmıştır. Bunun kaynağının da ölüm sonrası meydana gelen bazı durumların bilinmemesi, kontrol edilememesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.<sup>36</sup>

Jenkins ve Oblock göstermiştir ki kanda veya idrarda bulunan fensiklidin, aynı şekilde GİS'te de bu-

lunmaktadır. Öte yandan tetrahidrokannabinol (THC) ve metabolitlerini (11-OH-THC, THC-COOH veya THC-COOH glukuronit) GİS'te tayin etmek oldukça zordur. Zira bu maddelerin GİS'te stabil olmadığı ve de bu sıvıya transferi oldukça düşük olduğu bilinmektedir.<sup>37</sup>

Postmortem örneklerde insülin belirlenmesi oldukça karmaşıktır. İnsülin intoksikasyonuna bağlı ölümlerde GİS, kan ve serum sıvılarının yanında tamamlayıcı nitelik taşımaktadır. Özellikle kan hemolize uğramışsa, insülin degrade eden enzimler ve hemoglobin ile proteolitik olmayan insülin degradasyonunun gerçekleşmesi yanıltıcı olabilmektedir. İçeriğinde hemoglobin bulunmaması ve postmortem değişimlerden az etkilenmesi nedeniyle GİS, insülin tayininde umut veren bir postmortem örnektir.<sup>3</sup>

De Letter ve ark. tavşan üzerinde yaptıkları deneyde, fareye metilen dioksi metamfetamin (MDMA) verildikten 1 saat sonra, GİS'teki ve kandaki MDMA düzeylerini bakılmış ve aralarında doğru orantı olduğu doğrulanmıştır. Hatta bu çalışmada, 73 saat sonra kan ve GİS'teki MDMA konsantrasyonları karşılaştırıldığında, GİS'teki MDMA konsantrasyonunun kana göre daha stabil olduğu ve antemortem kanı temsil ettiği belirtilmiştir.<sup>38</sup>

Holmgren ve ark. 12 ay boyunca -20 °C'de kalan, kanda ve GİS'te bulunan 46 bileşik için analiz yapmış ve bu biyolojik örnekler karşılaştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda, bu maddelerin örneklerdeki bulunurluğu karşılaştırıldığında sadece yarısında bir korelasyon bulunmuştur. Amfetamin, diltiazem, tramadol, venlafaksin GİS'te ve kanda korelasyon gösterirken, klomipramin, klozapin, sertralin gibi maddelerde herhangi bir korelasyon görülmemiştir. Ancak örneklem büyüklüğünün az olması, çalışmanın ilerideki araştırmalar ile desteklenmesi gerektiğini ortaya koymaktadır. Kanda oksikodon ve fenitoin bulunduğu durumlarda, GİS'te de sistematik olarak bulunduğu gözlemlenmiştir.<sup>39</sup> Günümüzde yapılan çalışmalarda, daha çok kan/GİS oranına göre yorum yapılması gerektiği önerilmektedir.<sup>3</sup>

Günümüzde, Dünya'da ve ülkemizde küresel bir sorun hâline gelen yeni nesil psikoaktif maddelerin GİS'ten tayini için yapılan bir çalışmada; fentanil, U-47700, furanilfentanil, norfentanil ve 4-anilino-N-

phenethyl-piperidine (4-ANPP)'nin beyin, kan ve GİS'teki dağılımı karşılaştırılmış ve bu çalışmada, en çok yeni nesil psikoaktif madde ve metabolitinin analizlenebildiği matriksin beyin (norfentanil beyinde tespit edilememiştir), daha sonra kan son olarak da GİS olduğu gözlemlenmiştir. Ancak yapılan çalışmada, örnek sayısı az olduğundan yeni bir çalışmayla doğrulanması, kanın olmadığı durumlarda GİS ve beyin kullanımının yararlı olacağı belirtilmiştir.<sup>40</sup>

Diabetes mellitus, dünya genelinde ölüme neden olan majör bir faktördür. Günümüzde diyabetik sorunlar gitgide artmakta, büyük halk sağlığı sorununa dönüşmektedir. Diyabetik ketoasidozis, insülin eksikliğine bağlı oluşan bir durumdur. Örnek olarak Tip 1 diyabet sayılabilir. Ölümlerin 1/3'ünden fazlasının diyabetik ketoasidoza bağlı ölümler olduğu tahmin edilmektedir. Hiperglisemik hiperozmolar durumun da diyabetle birlikte ölüme neden olduğu bilinmektedir. Özellikle 24 yaşın altında olan Tip 1 diyabetli genç ve çocuklarda, diyabetik ketoasidoz görülme olasılıkları daha yüksektir. Diyabete bağlı komplikasyonlardan ölen kişilerin belirlenmesi oldukça zordur. Çünkü mikro ve makro düzeyde karakteristik bilgi eksikliği vardır. Diyabetik ketoasidoza bağlı ölümler, biyokimyasal parametrelerin (elektrolit ve diğer maddelerin) araştırılmasıyla çözülebilmektedir.<sup>1</sup>

Kan, glukoz metabolizması bozukluklarının belirlenmesinde en çok kullanılan belirteçtir. Kardiyak ve solunum fonksiyonlarının durmasıyla canlı hücreler spontane bir şekilde glukozu metabolize etmeye yani glikolize devam ederler, bu da kan glukoz seviyesinde ani düşümlere neden olur. Karaciğer glikojeninin mobilizasyonu kan glukoz seviyesi artar, bu da katekolaminlerin salınımını artırır ve yanlış değerlendirmeye neden olur. Diğer bir önemli husus, ölüm sonrası kişinin farklı bölgelerinden alınan kanda, farklı glukoz seviyeleri ölçülebilir. Bu da yine yanlış yorumlamalara neden olmaktadır. Bu nedenle biyokimyasal maddelerin serebrospinal sıvı ve GİS'teki miktarlarının tespit edilmesi ve değerlendirilmesi önerilmektedir. GİS'te bulunabilen  $\beta$ -hidroksibütirat (BHB) maddesi, alkolik ketoasidoz durumunda asetona göre daha güvenilir bir belirteçtir. Artmış glukoz ve ketonların analizi için GİS uygun bir matrikstir.<sup>1</sup> Ayrıca ketonların idrarda ve



GİS'teki artışı, kişinin ölüm nedeninin hipotermi olduğuna dair destekleyici bilgi sağlamaktadır.<sup>41</sup>

Iten ve Meier yapmış oldukları çalışmaya göre GİS'te 11,6-63,2 mmol/L glukoz bulunmasının diyabete işaret ettiği, 3,9-5,8 mmol/L glukoz bulunmasının ise kişinin diyabet olmadığını gösterdiğini bildirmiştir.<sup>42</sup>

Karlovsek ise GİS'teki glukoz miktarı 13 mmol/L eşit veya daha fazla ise kişinin diyabetik olduğunu, glukoz ile birlikte laktatın toplam konsantrasyonları 23,7 mmol/L üzerindeyse kişinin hiperglisemik olduğunu ve bunun da ölümcül sonuçlara neden olabileceğini ileri sürmüştür. Ayrıca BHB, aseton ve asetat seviyelerine bakıp hipergliseminin doğrultulması gerektiğini tavsiye etmiştir.<sup>43</sup> Osuna ve ark., diyabet olduğu bilinen kadavraların GİS'inde fruktozamin ve glukoz analizi yapmış ve anlamlı farklar olduğunu ortaya koymuştur.<sup>44</sup> Kişinin ölüm sonrası glukoz seviyeleri değerlendirilirken ölüm nedeni de göz önünde bulundurulmalıdır. Bray ve ark.nın, uçak kazasında donma derecesine yakın suda birkaç gün kalarak hayatlarını kaybeden 13 kişi üzerinde yaptıkları araştırmada, GİS'teki glukoz değerlerinin kontrol grubuna kıyasla daha yüksek çıktığı görülmüştür.<sup>45</sup> Coe'nun yaptığı çalışmada ise diyabetik olmayan kişilerde vitröz glukozundaki artışın, ölümün hipotermiye bağlı gerçekleştiğine dair ipucu olduğu belirtilmiştir.<sup>46</sup>

## GÖZ İÇİ SIVISININ ANALİZİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER

GİS'te madde analizi için ön işlem olarak sıvı-sıvı çekitleme veya katı-faz çekitleme yöntemleri kullanılmaktadır.<sup>3</sup> Yapılan bir çalışmada, GİS'te ön işlemin etkinliğini artırmak için mikrodalga ile hızlandırılmış çekitleme yöntemi denenmiş ve katı-faz çekitlemeye göre daha verimli sonuçlar sergilediği görülmüştür. Ön işlem sonrası uygulanan analiz yöntemlerinden idrar ve kanda kantitatif madde analizi için kullanılan bazı yöntemlerin GİS için de uygun oldukları gösterilmiştir.<sup>47</sup>

### a) Kromatografik Teknikler

Kromatografik teknik, bir karışımdaki aranan maddenin mobil faz ve durağan faz arasındaki dağılımı

yolu ile ayırmaya yarayan tekniktir.<sup>48</sup> GİS'te çeşitli madde analizi için kullanılmış olan kromatografik teknikler arasında gaz kromatografisi [gas chromatography (GC)], sıvı kromatografisi [liquid chromatography (LC)] ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi [high-performance liquid chromatography (HPLC)] sayılabilir. GİS'te madde analizi için kullanılmış dedektörlerden en yaygın kullanılmış olanı kütle spektrometrisidir [mass spectrometry (MS)]. Bunun dışında alev iyonizasyon dedektörü, kafa boşluklu GC-alev iyonlaştırma dedektörü [headspace gas chromatography with flame ionization detection (HS-GC/FID)] de ilaç, psikoaktif madde, metabolit ve alkol tespiti için kullanılmış dedektörlerdir.<sup>3,49,50</sup>

GC-MS, ilaç analizinde sıkça kullanılan tekniktir. İçerdiği kütüphane sayesinde önceden analiz edilen maddelerle kolayca karşılaştırma yapılabilmekte, bu da analist için büyük kolaylık sağlamaktadır. Kokain, amfetaminler, opiyatlar, kannabinoidler ve metabolitlerinin analizi, bu teknik ile doğru ve güvenilir biçimde yapılabilmektedir.<sup>49,50</sup> Alkol analizi, daha çok HS-GC-FID veya GC-MS ile yapılmaktadır.<sup>14</sup> Suistimal edilen maddelerin tespitinde en çok kullanılan yöntemlerden bir diğeri HPLC'dir. Genellikle dedektör olarak diyod array dedektörü (DAD) kullanılmaktadır. Ancak bu analiz yönteminin, kütle dedektörü ile doğrulanması gerekmektedir. PMI tahmininde kullanılan hipoksantin, sıklıkla bu kromatografik yöntem ile tayin edilmektedir.<sup>1</sup>

Benzodiazepinlerin GİS'teki tayiniyle ilgili çalışmalar başta olmak üzere diğer ksenobiyotiklerin, bu sıvıdaki analizinde HPLC-DAD, HPLC-MS/MS ve uçuş zamanlı kütle dedektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografisi [high performance liquid chromatography-time of flight-mass spectrometry (HPLC-TOF-MS)] kullanılması, diğer yöntemler gibi oldukça güvenilir ve gerçeğe yakın sonuçlar ortaya koymaktadır.<sup>3,51</sup>

Sıvı kromatografisi sıralı kütle spektrometrisi (LC-MS/MS), GİS'te bulunan toksik maddeler, suistimal edilen ilaçlar, etil glukuronit ve etil sülfat, terapötik ilaçlar ve metabolitlerinin tayini için kullanılan ve son yıllarda rutin analizlerde sıkça kul-

lanılmakta olan bir tekniktir.<sup>52,53</sup> Kapsamlı araştırma yapmak için LC-TOF-MS ile de GİS'ten çeşitli maddeler analiz edilmiştir.<sup>12</sup>

#### b) İmmünolojik yöntemler

İmmünolojik yöntemler, spesifik antijen-antikor ilişkisine dayanarak, aranan maddenin tayin edilmesi için kullanılan bir tarama tekniğidir.<sup>48</sup> GİS'te yasa dışı maddenin pozitif veya negatif olduğunu belirlemede kullanılan immüno görüntüleme yöntemlerinin başlıcaları; ELISA kitleri, EMIT® (Siemens, Newark) ve Cozart® RapiScan (Bioscience) sistemleridir. Opiyat ve kokain metabolitlerinin, immünolojik analiz yöntemi ile GİS'te tespit edilebildiği bilinmektedir. Fen-siklidin ve kannabinoidler, bu yöntem ile tayin edilip, GC-MS veya LC-MS/MS ile doğrulanmalıdır.<sup>54-56</sup>

İmmünolojik yöntemler, santrifüj dışında başka ön işlem gerektirmeden, amfetaminler, metadon, opiyatlar, benzodiazepinler ve kokain varlığının tayini için kullanılmaktayken, insülin, geleneksel immünolojik yöntemlerin dışında immünoradyometrik ve kemiluminesans enzim immünoassay yöntemleri ile de tespit edilmektedir.<sup>3,57</sup> En büyük avantajı, ön işlem gerektirmemesi olsa da tayin limitlerinin ve yanlış negatif/pozitif olasılığının kromatografik yöntemlere göre yüksek olması bu yöntemin doğrulanması gerektiğini ortaya koymaktadır.<sup>58-61</sup>

#### c) Spektrofotometrik Yöntem

GİS'te kreatinin tayini, Jaffe reaksiyonu ile analiz edilebilmektedir. Kreatinin, alkali ortamda pikrik asit ile turuncu-kırmızı renkli kreatinin-pikrat bileşiği oluşturur. Bu bileşik 520 nm'de spektrofotometrik yöntemle ölçülebilmektedir. Jaffe reaksiyonu ucuz, basit bir yöntem olduğundan sıklıkla kullanılmaktadır.<sup>25,62</sup>

#### d) Diğer Yöntemler

Enzimatik yöntem, yarı-otomatik analizör, fotometri, induktif eşleşmiş plazma-MS [inductively coupled plasma-MS (ICP-MS)] ve iyon seçici elektrotlar daha çok GİS'te bulunan biyokimyasal parametreler olan üre, glukoz, kreatinin, kreatin, elektrolitlerin (sodyum, magnezyum, potasyum, klorür, kalsiyum) tespit edilmesinde kullanılmaktadır.<sup>17,63,64</sup> Bir çalışmada, kapiller elektroforez kullanılarak, GİS'te madde tespiti

için yöntem geliştirilmiş ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir.<sup>65</sup>

## GÖZ İÇİ SIVISININ ALTERNATİF KULLANIM ALANLARI

Böbrek fonksiyon bozuklukları vücuttaki ozmolalite, asidite, elektrolit bozukluklarına neden olmakta, ayrıca vücuttan toksik madde, ilaç ve metabolit atılımını da azaltıp, bu maddelerin vücutta birikimine yol açmaktadır. Böbrek fonksiyonu değerlendirilmesi, genellikle glomerülüs filtrat hızını tespit ederek ve albumineriye bakılarak yapılmaktadır. Glomerülüs filtrat hızı tahmininde en çok kullanılan yöntem serum kreatinin analizidir.<sup>66,67</sup>

Ölüm öncesi böbrek fonksiyonu bilinmiyorsa, açıklanamamış bir ölüm var ise ve kişinin tıbbi kayıtlarına ulaşamıyorsa, antemortem durum hakkında bilgi verebilecek bazı biyokimyasal parametrelere ihtiyaç duyulur. Bu amaçla kullanılan postmortem kreatinin analizi, antemortem renal durum hakkında fikir vermektedir.<sup>68</sup> Ayrıca renal bozukluğun sebebinin bilinmesi için de yararlı bilgiler sağlayabilir. Örneğin diyabetik hastalarda, böbreği etkileyen ağır metale (baryum, kadmiyum, kobalt, bakır, kurşun, lityum, cıva ve platin gibi) maruz kalmış kişilerde, nefrotoksik ilaç kullanmış bireylerde böbrek fonksiyonları bozulmuş, bu nedenle ölüm gerçekleşmiş olabilir.<sup>69</sup> İlacın kendisi veya metabolitinin vücutta birikmesiyle toksik veya letal etkiler oluşturabilecek bir madde ise örneğin lityum, digoksin, siklofosfamid, metformin, antikoagülanlar gibi kişiye büyük ölçüde zarar verebilir.<sup>70,71</sup> Kronik böbrek hastası olan hamile kişilerde veya emziren annelerde ilaç-doza ayarlaması çok önemlidir. Kişinin böbrek hastalığını dikkate almadan verilen ilaçlar, kişinin ya da bebeğin zarar görme riskini artırmaktadır. Özellikle bazı immünosupresantlar (siklofosfamid, leflunomid, sirolimus), antibiyotikler (moksifloksasin, doksisisiklin, meropenem, ertapenem) ve antihipertansif (anjyotensin kanal enzim inhibitörleri) ilaçlarda dikkatli olunması gerekmektedir.<sup>72</sup>

Yukarıda bahsi geçen tüm bu nedenler için GİS'te kreatinin analizinin etkisi araştırılmış, bu maddenin postmortem periyotta stabil kalarak antemortem böbrek işlevi hakkında fikir verebildiği

gösterilmiştir. Antemortem dönemdeki böbrek fonksiyonu bilinen ölmüş kişilerin GİS'indeki kreatinin miktarı ile karşılaştırma yapılmış ve aralarında bir korelasyon bulunmuştur. GİS'te yapılan çalışmalar göstermiştir ki kreatinin, bu sıvıda yüksek hassasiyet ve doğrulukla böbrek fonksiyonu göstergesi olarak kullanılabilir. Vitröz kreatinin düzeyinin ve buna bağlı olarak hesaplanan glomerülüs filtrat hızının, postmortem araştırmalara yardım edebileceği, destekleyici bilgi sağlayabileceği gösterilmiştir. Özellikle tahmini glomerülüs filtrat hızı 60 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> altında olan kişilerde dahi doğru sonuçlar elde edilmiştir.<sup>73</sup>

Diyabetik kişilerde oksidatif hasarın GİS'te tespit edilmesi, diğer bir kullanım alanını oluşturmaktadır. Diyabetik dokulardan olan retinada reaktif oksijen ve reaktif azot türleri meydana gelmektedir. Bu da retinopatiye büyük ölçüde katkıda bulunmaktadır.<sup>74</sup> GİS proteinlerinin yaşa bağlı karbonilasyonunun, kişinin biyolojik yaşı hakkında bilgi verebilirliği üzerine çalışma yapılmıştır. Buna göre bazı retinal proteinlerin, kişinin yaşa bağlı oksidatif hasarı ve biyolojik yaşı için indikatör olabileceği sonucuna varılmıştır.<sup>75</sup>

## SONUÇ

GİS, kan ve idrarın elverişli olmadığı durumlarda kullanılabilir en iyi alternatif postmortem biyolojik örnektir. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki bu sıvıda bulunan maddelerin bazıları, femoral kanda da aynı oranda bulunmakta ve bu sayede kana destekleyici materyal olma özelliği taşımaktadır.

Özellikle kişinin ölüm nedeninin bilinmediği, ölüm esnasında herhangi bir şahit bulunmadığı durumlarda ve şüpheli ölümlerde kullanıma potansiyeli yüksektir. Kan, ölüm şekline bağlı olmakla birlikte çabuk bozulabilmekte, bu da maddelerin kimyasal değişime uğramasına, postmortem yeniden dağılıma, madde miktarında azalmalara; dolayısıyla yanlış yorumlamalara neden olabilmektedir. İdrar ise her durumda bulunamayan bir örnek türüdür. Tam ve doğru bir analiz için diğer biyolojik sıvılara ihtiyaç duyulmaktadır. GİS'in her durumda var olması, hiçbir dış kaynaklı etkenlerden etkilenmemesi ve antemortem kanı temsil edebilmesi, kanda bulunan bazı maddeler ve metabolitlerinin bu sı-

vıda da olması sebebiyle adli bilimlere için oldukça yararlı bir matristir. Hem kalitatif hem de kantitatif olarak analizlerin yapılabilirdiği bu sıvının analizi, karaciğer dokusuna göre ise çok daha kolaydır.

GİS'te kapsamlı olarak psikotrop madde, ilaç ve metabolit analizi yapılmamıştır. Pek çok çalışmada, analizin geçerli kılınmasında yetecek miktarda örnek olmayışı, GİS ile ilgili bilgilerin kısıtlı olmasına yol açmıştır. GİS'te bulunan madde miktarının temsil ettiği kan konsantrasyonu hakkında doğru karar verebilmek için daha fazla örnekle çalışılarak, daha kapsamlı çalışmalar yapılmalıdır. Günden güne yasa dışı madde kullanımı artmakta, yeni nesil psikoaktif maddeler ortaya çıkmaktadır. Bu maddelerin tespitini kolaylaştırmak, letal ve toksik dozlarını belirleyebilmek, kişinin ölüm nedenini bulabilmek için deneysel çalışmalar henüz kısıtlıdır. Yapılan çalışmalarda, GİS'te bulunmayan ya da az bulunan maddelerin kişinin aldığı dozla mı ilişkili olduğu yoksa örnek analiziyle ilgili yanlışlıklardan mı kaynaklı olduğu netleştirilmelidir. Kan-retina bariyerini geçebilen maddeler tespit edilerek, diğer sıvılarla destekleyici bilgiler sağlanmalıdır. Böylelikle GİS ile diğer biyolojik örnekler arasında belli oranlar, algoritmalar veya formüller oluşturularak kan-madde düzeyi hakkında net bulgular ortaya koyulabilir. Diyabetik kişilerde meydana gelen göz hasarının ve oksidatif hasarın belirlenmesinde, biyolojik yaş tayininde kullanılabilirliği gibi kreatinin analizi sayesinde kişinin ölüm öncesi renal durumu hakkında fikir sahibi olunabilir. Bu gelişmeler sayesinde adli dosyalarda cevabı bilinmeyen sorular yanıtlanabilir, negatif otopsi olguları aydınlatılabilir, malpraktis davalarına destekleyici veriler sağlanabilir.

### Finansal Kaynak

*Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.*

### Çıkar Çatışması

*Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.*

**Yazar Katkıları**

**Fikir/Kavram:** Selda Mercan, Simge Zengin; **Tasarım:** Selda Mercan, Simge Zengin; **Denetleme/Danışmanlık:** Selda Mercan; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Selda Mercan, Simge Zengin;

**Analiz ve/veya Yorum:** Selda Mercan, Simge Zengin; **Kaynak Taraması:** Selda Mercan, Simge Zengin; **Makalenin Yazımı:** Selda Mercan, Simge Zengin; **Eleştirel İnceleme:** Selda Mercan; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Selda Mercan.

**KAYNAKLAR**

- Kalra J, Mulla A, Kopargaonkar A. Diagnostic value of vitreous humor in postmortem analysis. *SM J Clin Pathol.* 2016;1(1):1005.[Link]
- Baniak N, Campos-Baniak G, Mulla A, Kalra J. Vitreous humor: a short review on post-mortem applications. *J Clin Exp Pathol* 2015;5(1):1-7. [Link]
- Bévalot F, Cartiser N, Bottinelli C, Fanton L, Guittion J. Vitreous humor analysis for the detection of xenobiotics in forensic toxicology: a review. *Forensic Toxicol.* 2016;34:12-40.[Crossref] [PubMed] [PMC]
- Lappas NT, Lappas CM. Analytical samples. *Forensic Toxicology: Principles and Concepts.* 1st ed.Oxford: Elsevier; 2016. p.113-20.[Crossref]
- Mathur A, Agrawal YK. An overview of methods used for estimation of time since death. *Australian Journal of Forensic Sciences.* 2011;43(4):275-85.[Crossref]
- Kleinberg TT, Tzekov RT, Stein L, Ravi N, Kaushal S. Vitreous substitutes: a comprehensive review. *Surv Ophthalmol.* 2011;56(4):300-23.[Crossref] [PubMed]
- Pigaiani N, Bertaso A, De Palo EF, Bortolotti F, Tagliaro F. Vitreous humor endogenous compounds analysis for post-mortem forensic investigation. *Forensic Sci Int.* 2020;310:110235. [Crossref] [PubMed]
- Käs Dorf BT, Arends F, Lieleg O. Diffusion regulation in the vitreous humor. *Biophys J.* 2015;109(10):2171-81. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Donati S, Caprani SM, Airaghi G, Vinciguerra R, Bartalena L, Testa F, et al. Vitreous substitutes: the present and the future. *Biomed Res Int.* 2014;2014:351804.[Crossref] [PubMed] [PMC]
- Gürler M, Altuntaş A. [Postmortem biochemistry]. *Dicle Medical Journal.* 2014;41(4):773-80.[Crossref]
- Dinis-Oliveira RJ, Vieira DN, Magalhães T. Guidelines for Collection of Biological Samples for Clinical and Forensic Toxicological Analysis. *Forensic Sci Res.* 2017;1(1):42-51.[Crossref] [PubMed] [PMC]
- Pelander A, Ristimaa J, Ojanperä I. Vitreous humor as an alternative matrix for comprehensive drug screening in postmortem toxicology by liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry. *J Anal Toxicol.* 2010;34(6):312-8. [Crossref] [PubMed]
- Baduroğlu E, Durak D. [The forensic medicine problems related with alcohol]. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi.* 2010;36(2):65-71. [Link]
- Kugelberg FC, Jones AW. Interpreting results of ethanol analysis in postmortem specimens: a review of the literature. *Forensic Sci Int.* 2007; 165(1):10-29. [Crossref] [PubMed]
- Ioan BG, Jitaru V, Damian R, Damian SI. Study on the relationship between the concentration of ethanol in the blood, urine and the vitreous humour. *Rom J Leg Med.* 2015;23(3):211-6.[Crossref]
- Caplan YH, Levine B. Vitreous humor in the evaluation of postmortem blood ethanol concentrations. *J Anal Toxicol.* 1990;14(5):305-7.[Crossref] [PubMed]
- Li W, Chang Y, Cheng Z, Ling J, Han L, Li X, et al. Vitreous humor: a review of biochemical constituents in postmortem interval estimation. *Journal of Forensic Science and Medicine* 2018;4(2):85-90.[Link]
- Madea B, Henssge C, Hönig W, Gerbracht A. References for determining the time of death by potassium in vitreous humor. *Forensic Sci Int.* 1989;40(3):231-43.[Crossref] [PubMed]
- Murthy AS, Das S, Thazhath HK, Chaudhari VA, Adole PS. The effect of cold chamber temperature on the cadaver's electrolyte changes in vitreous humor and plasma. *J Forensic Leg Med.* 2019;62:87-91.[Crossref] [PubMed]
- Bray M. Chemical estimation of fresh water immersion intervals. *Am J Forensic Med Pathol.* 1985;6(2):133-9.[Crossref] [PubMed]
- Go A, Shim G, Park J, Hwang J, Nam M, Jeong H, et al. Analysis of hypoxanthine and lactic acid levels in vitreous humor for the estimation of post-mortem interval (PMI) using LC-MS/MS. *Forensic Sci Int.* 2019;299:135-41.[Crossref] [PubMed]
- Belsey SL, Flanagan RJ. Postmortem biochemistry: current applications. *J Forensic Leg Med.* 2016;41:49-57. [Crossref] [PubMed]
- Zilg B, Bernard S, Alkass K, Berg S, Druid H. A new model for the estimation of time of death from vitreous potassium levels corrected for age and temperature. *Forensic Sci Int.* 2015;254:158-66.[Crossref] [PubMed]
- Hanna PE, Bellamy JE, Donald A. Postmortem eye fluid analysis in dogs, cats and cattle as an estimate of antemortem serum chemistry profiles. *Can J Vet Res.* 1990;54(4):487-94.[PubMed] [PMC]
- Palmiere C, Mangin P. Urea nitrogen, creatinine, and uric acid levels in postmortem serum, vitreous humor, and pericardial fluid. *Int J Legal Med.* 2015;129(2):301-5.[Crossref] [PubMed]
- Patrick WJ, Logan RW. Free amino acid content of the vitreous humour in cot deaths. *Arch Dis Child.* 1988;63(6):660-2. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Ansari N, Menon SK. Determination of time since death using vitreous humor tryptophan. *J Forensic Sci.* 2017;62(5):1351-6.[Crossref] [PubMed]
- Lale A, Yıldırım MŞ, Akçan R, Balseven Odabaşı A, Tümer AR. [Postmortem interval estimation by vitreous fluid analysis from past to present]. *J For Med.* 2017;31(1):26-35.[Crossref]
- Odrizola A, Riancho JA, de la Vega R, Agudo G, Garcia-Blanco A, de Cos E, et al. miRNA analysis in vitreous humor to determine the time of death: a proof-of-concept pilot study. *Int J Legal Med.* 2013;127(3):573-8.[Crossref] [PubMed]
- Ojänpera I, Ojansivu RL, Nokua J, Vuori E. Comprehensive TLC drug screening in forensic toxicology: comparison of findings in urine and liver. *J Planar Chromatogr-Mod TLC.* 1999;12(1):38-41.[Link]
- Busardò FP, Vaiano F, Mannocchi G, Bertol E, Zaami S, Marinelli E. Twelve months monitoring of hair GHB decay following a single dose administration in a case of facilitated sexual assault. *Drug Test Anal.* 2017;9(6):953-6. [Crossref] [PubMed]
- Busardò FP, Portelli F, Montana A, Rotolo MC, Pichini S, Maresi E. When a death apparently associated to sexual assault is instead a natural death due to idiopathic hypereosinophilic syndrome: The importance of gamma-hydroxybutyric acid analysis in vitreous humor. *Leg Med (Tokyo).* 2017;26:92-97.[Crossref] [PubMed]
- Pragat F, Spiegel K, Leuschner U, Hager A. Detection of 6-acetylmorphine in vitreous humor and cerebrospinal fluid—comparison with urinary analysis for proving heroin administration in opiate fatalities. *J Anal Toxicol.* 1999;23(3):168-72. [Crossref] [PubMed]
- Robertson MD, Drummer OH. Postmortem distribution and redistribution of nitrobenzodiazepines in man. *J Forensic Sci.* 1998;43(1):9-13.[Crossref] [PubMed]

35. Scott KS, Oliver JS. The use of vitreous humor as an alternative to whole blood for the analysis of benzodiazepines. *J Forensic Sci.* 2001;46(3):694-7. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
36. Antonides HM, Kiely ER, Marinetti LJ. Vitreous fluid quantification of opiates, cocaine, and benzoylcegonine: comparison of calibration curves in both blood and vitreous matrices with corresponding concentrations in blood. *J Anal Toxicol.* 2007;31(8):469-76. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
37. Jenkins AJ, Oblock J. Phencyclidine and cannabinoids in vitreous humor. *Leg Med (Tokyo).* 2008;10(4):201-3. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
38. De Letter EA, De Paepe P, Clauwaert KM, Belpaire FM, Lambert WE, Van Bocxlaer JF, et al. Is vitreous humor useful for the interpretation of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) blood levels? Experimental approach with rabbits. *Int J Legal Med.* 2000;114(1-2):29-35. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
39. Holmgren P, Druid H, Holmgren A, Ahlner J. Stability of drugs in stored postmortem femoral blood and vitreous humor. *J Forensic Sci.* 2004;49(4):820-5. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
40. Chesser R, Pardi J, Concheiro M, Cooper G. Distribution of synthetic opioids in postmortem blood, vitreous humor and brain. *Forensic Sci Int.* 2019;305:109999. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
41. Palmiere C, Mangin P. Postmortem biochemical investigations in hypothermia fatalities. *Int J Legal Med.* 2013;127(2):267-76. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
42. Iten PX, Meier M. Beta-hydroxybutyric acid—an indicator for an alcoholic ketoacidosis as cause of death in deceased alcohol abusers. *J Forensic Sci.* 2000;45(3):624-32. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
43. Karlovsek MZ. Diagnostic values of combined glucose and lactate values in cerebrospinal fluid and vitreous humour—our experiences. *Forensic Sci Int.* 2004;146 Suppl:S19-23. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
44. Osuna E, García-Villora A, Pérez-Cárceles M, Conejero J, Maria Abenza J, Martínez P, et al. Glucose and lactate in vitreous humor compared with the determination of fructosamine for the postmortem diagnosis of diabetes mellitus. *Am J Forensic Med Pathol.* 2001;22(3):244-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
45. Bray M, Luke JL, Blackbourne BD. Vitreous humor chemistry in deaths associated with rapid chilling and prolonged freshwater immersion. *J Forensic Sci.* 1983;28(3):588-93. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
46. Coe JI. Hypothermia: autopsy findings and vitreous glucose. *J Forensic Sci.* 1984;29(2):389-95. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
47. Fernández P, Seoane S, Vázquez C, Bermejo AM, Carro AM, Lorenzo RA. A rapid analytical method based on microwave-assisted extraction for the determination of drugs of abuse in vitreous humor. *Anal Bioanal Chem.* 2011;401(7):2177-86. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
48. Nielsen SS. *Immunoassays.* 5th ed. West Lafayette: Springer; 2017. p.188,488.
49. Metushi IG, Fitzgerald RL, McIntyre IM. Assessment and comparison of vitreous humor as an alternative matrix for forensic toxicology screening by GC-MS. *J Anal Toxicol.* 2016;40(4):243-7. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
50. Peres MD, Pelição FS, Caleffi B, De Martinis BS. Simultaneous quantification of cocaine, amphetamines, opiates and cannabinoids in vitreous humor. *J Anal Toxicol.* 2014;38(1):39-45. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
51. Cabarcos P, Taberero MJ, Álvarez I, López P, Fernández P, Bermejo AM. Analysis of six benzodiazepines in vitreous humor by high-performance liquid chromatography-photodiode-array detection. *J Anal Toxicol.* 2010;34(9):539-42. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
52. Maurer HH. Liquid chromatography-mass spectrometry in forensic and clinical toxicology. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1998;713(1):3-25. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
53. Thierauf A, Kempf J, Perdekamp MG, Auwärter V, Gnann H, Wohlfarth A, et al. Ethyl sulphate and ethyl glucuronide in vitreous humor as post-mortem evidence marker for ethanol consumption prior to death. *Forensic Sci Int.* 2011;210(1-3):63-8. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
54. Fucci N, De Giovanni N, De Giorgio F, Liddi R, Chiarotti M. An evaluation of the Cozart RapiScan system as an on-site screening tool for drugs of abuse in a non-conventional biological matrix: vitreous humor. *Forensic Sci Int.* 2006;156(2-3):102-5. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
55. Ojanperä I, Vuori E, Nieminen R, Penttilä A. Screening for barbiturates in vitreous humor by the EMIT-st serum enzyme immunoassay. *J Forensic Sci.* 1986;31(2):707-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
56. Chronister CW, Gund AL, Goldberger BA. Rapid detection of opioids in vitreous humor by enzyme immunoassay. *J Anal Toxicol.* 2008;32(8):601-4. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
57. Mali N, Karpe M, Kadam V. A review on biological matrices and analytical methods used for determination of drug of abuse. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* 2011;1(6):58-65. [[Link](#)]
58. Kapur BM. False positive drugs of abuse immunoassays. *Clin Biochem.* 2012;45(9):603-4. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
59. Datta P. Oxaprozin and 5-(p-hydroxyphenyl)-5-phenylhydantoin interference in phenytoin immunoassays. *Clin Chem.* 1997;43(8 Pt 1):1468-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
60. Grinstead GF. Ranitidine and high concentrations of phenylpropranolamine cross react in the EMIT monoclonal amphetamine/methamphetamine assay. *Clin Chem.* 1989;35(9):1998-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
61. Brahm NC, Yeager LL, Fox MD, Farmer KC, Palmer TA. Commonly prescribed medications and potential false-positive urine drug screens. *Am J Health Syst Pharm.* 2010;67(16):1344-50. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
62. Randviir EP, Banks CE. Analytical methods for quantifying creatinine within biological media. *Sensors and Actuators B: Chemical.* 2013;183:239-52. [[Crossref](#)]
63. Santos Júnior JC, Mollo Filho PC, Felice Guidugli RB, Eberlin MN, Pessôa Gde S, da Silva EG, et al. Metals and (metallo)proteins identification in vitreous humor focusing on post-mortem biochemistry. *Metallomics.* 2014;6(10):1801-7. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
64. Thierauf A, Musshoff F, Madea B. Post-mortem biochemical investigations of vitreous humor. *Forensic Sci Int.* 2009;192(1-3):78-82. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
65. Costa JL, Morrone AR, Resende RR, Chasin AA, Tavares MF. Development of a method for the analysis of drugs of abuse in vitreous humor by capillary electrophoresis with diode array detection (CE-DAD). *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2014;945-946:84-91. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
66. Coresh J, Selvin E, Stevens LA, Manzi J, Kusek JW, Eggers P, et al. Prevalence of chronic kidney disease in the United States. *JAMA.* 2007;298(17):2038-47. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
67. Grams ME, Chow EK, Segev DL, Coresh J. Lifetime incidence of CKD stages 3-5 in the United States. *Am J Kidney Dis.* 2013;62(2):245-52. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
68. Chawla LS, Eggers PW, Star RA, Kimmel PL. Acute kidney injury and chronic kidney disease as interconnected syndromes. *N Engl J Med.* 2014;371(1):58-66. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
69. Lentini P, Zanolli L, Granata A, Signorelli SS, Castellino P, Dell'Aquila R. Kidney and heavy metals - The role of environmental exposure (Review). *Mol Med Rep.* 2017;15(5):3413-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
70. Lea-Henry TN, Carland JE, Stocker SL, Sevastos J, Roberts DM. Clinical pharmacokinetics in kidney disease: fundamental principles. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2018;13(7):1085-95. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
71. Kim SY, Moon A. Drug-induced nephrotoxicity and its biomarkers. *Biomol Ther (Seoul).* 2012;20(3):268-72. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
72. Sarwar A. Drugs in renal disease and pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2019;57:106-19. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
73. Maskell PD, Penney E, Smith PR, Hikin LJ, Morley SR. Post-mortem diagnosis of kidney impairment: An experimental study. *Forensic Sci Int.* 2019;301:271-7. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
74. Géhl Z, Bakondi E, Resch MD, Hegedűs C, Kovács K, Lakatos P, et al. Diabetes-induced oxidative stress in the vitreous humor. *Redox Biol.* 2016;9:100-3. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
75. Kumagai A, Nakayashiki N, Aoki Y. Analysis of age-related carbonylation of human vitreous humor proteins as a tool for forensic diagnosis. *Leg Med (Tokyo).* 2007;9(4):175-80. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]